

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA SANTON PADA FRAKSI DIKLOROMETANA KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) ASAL KALIMANTAN BARAT

I. Permatasari, M. A. Wibowo, Rudyansyah dan A. H. Alimuddin*

Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

*Email: andi.hairil.alimuddin@chemistry.untan.ac.id

ABSTRAK

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan tanaman yang memiliki manfaat terutama pada bagian kulit buah yaitu sebagai antioksidan, antikanker, antimalaria, antibakteri, antimikroba, antiprotozoal, antidiabetes dan larvasida. Senyawa metabolit sekunder yang paling sering ditemukan dalam kulit buah manggis adalah senyawa golongan santon. Penelitian ini menggunakan sampel kulit buah manggis yang tumbuh di Kalimantan Barat. Tahapan penelitian untuk memperoleh isolat adalah ekstraksi (maserasi dan partisi), uji fitokimia, kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair vakum (KCV), dan kromatografi kolom *Flash* (KKF). Hasil isolat G₈M₆L₇ berupa kristal kuning sebanyak 27,6 mg diidentifikasi dengan metode KLT eluen n-heksana:etil asetat (7:3) menggunakan reagen semprot serum sulfat. Hasil yang diperoleh berupa bercak berwarna kuning yang mengindikasikan sebagai senyawa santon. Identifikasi lebih lanjut terhadap isolat G₈M₆L₇ dengan metode spektroskopi UV-Vis, FT-IR dan ¹H NMR. Isolat tersebut diperkirakan senyawa santon terprenilasi didukung dengan data spektrum UV-Vis pada panjang gelombang 297 nm menandakan adanya kromofor yang berkonjugasi ikatan rangkap. Interpretasi terhadap spektrum FT-IR menunjukkan adanya puncak serapan khas yang mengindikasikan sebagai senyawa santon, dimana adanya gugus karbonil terkhelat (1624,06 cm⁻¹), gugus hidroksi -OH (3383,14 cm⁻¹), gugus -C=C- allil sp² (1463,97 cm⁻¹), gugus C-O pada eter ataupun hidroksi (1284,59 cm⁻¹) serta gugus C-H alifatik sp³ (2968,45 cm⁻¹, 2922,16 cm⁻¹, 2856,58 cm⁻¹). Interpretasi spektrum ¹H-NMR memperlihatkan geseran kimia rentang 6-8 ppm menunjukkan gugus aromatik, 13,69 (1H, s) dan 13,19 (1H, s) menunjukkan 2 hidroksi terkhelat, 6,73 (1H, d, J=10,05 Hz), 5,57 (1H, d, J=10,05 Hz) dan 1,46 (3H, s) menunjukkan gugus prenil tersiklisasi, serta 5,26 (2H, m), 4,09 (1H, d, J=6,4 Hz), 1,79 (3H, s) dan 1,69 (3H, s) menunjukkan gugus prenil. Berdasarkan data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa isolat G₈M₆L₇ dari fraksi DCM kulit buah manggis merupakan golongan senyawa santon.

Kata kunci: *Garcinia mangostana* L., kulit buah manggis, santon

ABSTRACT

Mangosteen (Garcinia mangostana L.) is a plant that has benefits, especially in the rind of the fruit, namely as an antioxidant, anticancer, antimalarial, antibacterial, antiprotozoal, antidiabetic and larvicide. The secondary metabolite compounds most often found in mangosteen rind are xanthenes. This study uses mangosteen rind sample that grow in West Kalimantan. Stages of research to obtain isolate were extraction (maceration and partition), phytochemical test, thin layer chromatography (TLC), vacuum liquid chromatography (VLC), and Flash column chromatography (FCC). The results of G₈M₆L₇ isolate in the form of 27.6 mg yellow crystals were identified by the TLC method eluent n-hexane: ethyl acetate (7: 3) using serum sulfate spray reagent. The results obtained in the form of yellow spot that indicate a xanthone compound. Further identification of G₈M₆L₇ isolates by UV-Vis, FT-IR and ¹H NMR spectroscopic methods. The isolate was estimated to be prenylated xanthenes compound supported by UV-Vis spectrum data at a wavelength of 297 nm indicating the presence of chromophore conjugated double bonds. Interpretation of the FT-IR spectrum shows that there is a characteristic absorption peak that indicates a xanthone compound, where there is a chelated carbonyl group (1624.06 cm⁻¹), a hydroxy group -OH (3383.14 cm⁻¹), -C=C- group allil sp² (1463.97 cm⁻¹), C-O groups on ether or hydroxy (1284.59 cm⁻¹) and CH aliphatic sp³ groups (2968.45 cm⁻¹, 2922.16 cm⁻¹, 2856.58 cm⁻¹). Interpretation of the ¹H-NMR spectrum shows chemical shift of 6-8 ppm show aromatic groups, 13.69 (1H, s) and 13.19 (1H, s) show 2 chelated hydroxides, 6.73 (1H, d, J = 10, 05 Hz), 5.57 (1H, d, J = 10.05 Hz) and 1.46 (3H, s) indicate the prenyl group cyclized, and 5.26 (2H, m), 4.09 (1H, d, J = 6.4 Hz), 1.79 (3H, s) and 1.69 (3H, s) indicate the prenyl group. Based on the data obtained it can be concluded that the isolate G₈M₆L₇ from the DCM fraction of mangosteen rind is a group of xanthenes compound.

Keywords: *Garcinia mangostana* L., mangosteen rind, xanthenes

PENDAHULUAN

Tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan tanaman buah tropis tahunan atau musiman yang berasal dari wilayah Malaysia dan berkembang ke seluruh Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Indonesia setiap tahunnya menghasilkan buah manggis rata-rata sekitar 60.000 ton (Putra, 2011). Buah manggis memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi pada setiap bagiannya. Bagian daging buah mengandung vitamin C, sakarosa, dekstrosa, dan levulosa. Kulit buah manggis mengandung karbohidrat 82,50%, protein 3,02%, dan lemak 6,45% (Shabella, 2011). Tanaman manggis memiliki banyak manfaat pada bagian kulit buah yaitu sebagai antioksidan (Yu *et al.*, 2007; Dungir *et al.*, 2012; Chin *et al.*, 2008; Pratiwi *et al.*, 2016), antikanker (Ragasa *et al.*, 2016; Moongkarndi *et al.*, 2015), sitotoksik (Suksamrarn *et al.*, 2006; Ramesh *et al.*, 2017), antimalaria (Riscoe *et al.*, 2005), antibakteri (Inas *et al.*, 2014; Suzy *et al.*, 2018), antimikroba (Al-Massarani *et al.*, 2013), antiprotozoal (Al-Massarani *et al.*, 2013), antidiabetes (Ryu *et al.*, 2011), dan aktivitas larvicidal (Larson *et al.*, 2010; Inas *et al.*, 2014).

Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam kulit buah manggis diantaranya adalah golongan santon, flavonoid, dan tannin (Heyne, 1987). Chin *et al.* (2008) telah mengisolasi kulit buah manggis yang berasal dari China dan Asia Tenggara terdiri dari 2 senyawa santon, 1,2-dihidro-1,8,10-trihidroksi-2-(2-hidroksipropil-2-il)-9-(3-metilbut-2-enil)furo [3,2-a]xanten-11-one dan 6-deoksi-7-demetilmangostanin, dengan 3 senyawa yang dikenal, 1,3,7-trihidroksi-2,8-di-(3-metilbut-2-enil) xanton, mangostanin, dan α -mangostin serta γ -mangostin yang menunjukkan aktivitas antioksidan dengan IC_{50} 0,20 μ g/mL. Penelitian lain oleh Massarani *et al.* (2013) mengisolasi 5 turunan santon dan 1 flavanol dari kulit buah manggis yang berasal dari Riyadh (Arab Saudi) yaitu α -mangostin, β -mangostin, 1-hidroksi-3,6,7-trimetoksi-2,8-bis(3-metilbut-2-enil)xanton, 9-hidroksicalabaxanton, tovoipillin A dan katekin.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, senyawa metabolit sekunder yang paling sering ditemukan pada fraksi DCM kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) adalah senyawa golongan santon. Buah manggis merupakan salah satu buah lokal

Kalimantan Barat, dimana wilayahnya beriklim tropis dan umumnya memiliki tanah gambut. Perbedaan lokasi tumbuhnya suatu tanaman dapat berpengaruh pada proses metabolisme dalam tanaman tersebut sehingga kemungkinan dihasilkan suatu senyawa yang berbeda dengan senyawa lain meskipun jenis tanaman sama. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai isolasi dan mengkaji karakteristik senyawa santon yang terkandung di dalam kulit buah manggis yang tumbuh di Kalimantan Barat.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah serbuk kulit buah manggis, metanol (CH_3OH), etil asetat ($C_4H_8O_2$), diklorometana (CH_2Cl_2), *n*-heksana (C_6H_{12}), asam sulfat (H_2SO_4), besi (III) klorida ($FeCl_3$), reagen Meyer, reagen Wagner, serum (IV) sulfat ($Ce(SO_4)_2$), logam Mg, silika gel 60, silika gel G60, kloroform ($CHCl_3$).

Peralatan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, *rotatory evaporator*, seperangkat alat Kromatografi Cair Vakum, seperangkat alat Kromatografi Kolom *Flash*, lampu UV 254 nm, pipet kapiler, chamber, plat uji, pipet ukur, pipet tetes, neraca analitik, botol vial, spektrofotometer UV-Vis *Shimadzu* UV-1280, spektrofotometer FT-IR *IRPrestige-21 Shimadzu*, spektrometer NMR *Agilent* 500 Hz.

Cara Kerja

Preparasi sampel

Buah manggis yang digunakan adalah buah manggis yang sudah matang berasal dari Kota Pontianak, Kalimantan Barat. Buah manggis diambil kulitnya lalu dibersihkan dan dikeringanginkan. Kulit buah manggis yang kering dipotong dan dihaluskan sehingga diperoleh serbuk kulit buah manggis sebanyak 2,5 kg.

Ekstraksi dan Partisi

Ekstraksi kulit buah manggis menggunakan metode maserasi. Serbuk kulit buah manggis sebanyak 2,5 kg diekstraksi menggunakan pelarut metanol selama 3x24 jam pada suhu kamar. Ekstrak disaring sehingga mendapatkan filtrat dan residu.

Pelarut yang terdapat dalam filtrat diuapkan menggunakan *rotatory evaporator* pada suhu 40 °C untuk menghasilkan ekstrak metanol.

Ekstrak metanol difraksinasi menggunakan metode partisi. Partisi dilakukan dengan caramenambahkan pelarut *n*-heksana kedalam ekstrak kental metanol untuk melarutkan komponen nonpolar sehingga terbentuk larutan dan endapan. Hasil tersebut disaring menghasilkan filtrat berupa fraksi *n*-heksana dan residu. Residu yang diperoleh dilanjutkan dengan langkah yang sama menggunakan masing-masing pelarut diklorometana (DCM) dan etil asetat untuk memperoleh masing-masing fraksi diklorometana (DCM) dan etil asetat serta residu yang selanjutnya disebut fraksi metanol. Hasil fraksi *n*-heksana, fraksi DCM dan fraksi etil asetat dipekatkan menggunakan *rotatory evaporator* pada suhu 40 °C menghasilkan ekstrak kental setiap fraksi.

Uji Fitokimia

Hasil ekstrak dan fraksi diuji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder berdasarkan perubahan warna dari penambahan reagen tertentu. Adapun uji yang dilakukan yaitu uji alkaloid, uji steroid dan terpenoid, uji flavonoid, serta uji fenolik.

Pemisahan dan Pemurnian

Sebanyak 36 g fraksi DCM difraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) yang terbagi dalam dua tahapan KCV. Masing-masing tahap digunakan 18 g fraksi DCM yang diimpregnasikan pada silika gel 60-70 mesh dengan perbandingan 1:1. Fraksi DCM yang sudah diimpregnasi dimasukkan ke dalam kolom berdiameter 4 cm dengan ketinggian 8 cm yang berisi fase diam berupa silika gel G60. Elusi dimulai dengan mengalirkan eluen kombinasi *n*-heksana:etil asetat dengan perbandingan 8:2, 6:4, 4:6, 2:8, etil asetat: metanol 1:1, dan metanol 100%. Sebanyak 24 vial yang diperoleh dari proses KVC dilanjutkan dengan proses identifikasi menggunakan metode KLT dengan eluen perbandingan *n*-heksana:etil asetat (6:4) sebagai dasar penggabungan vial. Vial yang memiliki pola noda dan *R_f* yang sama digabungkan, sehingga diperoleh 12 fraksi gabungan yaitu G₁-G₁₂. Fraksi G₈ memiliki senyawa yang kompleks sebanyak 18,48 g

sehingga dilakukannya pemisahan kembali menggunakan KCV.

Hasil fraksi G₈ diimpregnasi menggunakan silika gel 60-70 mesh dengan perbandingan 1:1. Elusi dimulai dengan mengalirkan eluen *n*-heksana 100%, kombinasi *n*-heksana : etil asetat dengan perbandingan 9:1, 8:2, 6:4, 4:6, 2:8, etil asetat : metanol 1:1, dan metanol 100%. Eluat yang dihasilkan sebanyak 40 fraksi, kemudian dilakukan KLT dengan eluen perbandingan *n*-heksana:etil asetat (6:4). Hasil fraksi yang memiliki pola noda dan *R_f* yang sama digabungkan, sehingga diperoleh 11 fraksi gabungan yaitu G₈M₁-G₈M₁₁. Hasil reagen semprot serum sulfat pada G₈M₆ menunjukkan bahwa spot noda yang dihasilkan mengandung golongan senyawa santon dan memiliki massa yang relatif banyak sehingga dipilih ke tahap pemurnian untuk memisahkan komponen senyawa yang terdapat dalam fraksi dengan menggunakan metode kromatografi kolom *Flash* (KKF).

Hasil fraksi G₈M₆ diimpregnasi menggunakan silika gel 60-70 mesh dengan perbandingan 1:1. Fase diam yang digunakan pada kromatografi kolom *Flash* berupa silika gel 60 (230-400 mesh). Kolom disiapkan dengan cara silika gel dibuat bubuk dengan menambahkan pelarut *n*-heksana, diaduk sampai jenuh. Bubur silika gel dimasukkan ke dalam kolom yang berdiameter 4 cm dengan ketinggian 16 cm, kemudian dimasukkan *n*-heksana dan didiamkan selama 24 jam. Fraksi G₈M₆ kemudian dimasukkan ke dalam kolom yang sudah berisi bubuk silika gel. Elusi dimulai dengan mengalirkan eluen kombinasi *n*-heksana : etil asetat dengan perbandingan 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, dan metanol 100%. Eluat yang dihasilkan sebanyak 525 vial, kemudian dilakukan KLT dengan eluen perbandingan *n*-heksana : etil asetat (4:6). Hasil fraksi yang memiliki pola noda dan *R_f* yang sama digabungkan, sehingga diperoleh 23 fraksi gabungan yaitu G₈M₆L₁-G₈M₆L₂₃. Isolat G₈M₆L₇ menunjukkan pola noda yang cukup sederhana yaitu spot noda tunggal sehingga diuji kemurniannya.

Uji kemurnian isolat G₈M₆L₇ dilakukan dengan menggunakan metode KLT dua dimensi. Eluen perbandingan yang digunakan pada KLT dua dimensi adalah *n*-heksana:etil asetat (7:3), kemudian dilanjutkan dengan eluen perbandingan *n*-heksana:etil asetat (6:4).

Hasil KLT akan menunjukkan spot noda tunggal yang berarti isolat tersebut cukup murni.

Karakterisasi Isolat G₈M₆L₇

a. Spektrofotometer UV-Vis

Isolat G₈M₆L₇ yang telah murni sebanyak 5 mg isolat dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang dilakukan di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Tanjungpura. Analisis UV-Vis mengacu pada prosedur kerja Astutiningsih *et al.* (2012) yang dilakukan dengan beberapa modifikasi. Isolat G₈M₆L₇ sebanyak 5 mg dilarutkan dalam 100 mL metanol. Larutan diukur nilai panjang gelombang maksimum pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.

b. Spektrofotometer FT-IR

Isolat G₈M₆L₇ yang telah murni sebanyak 1 mg dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer FT-IR yang dilakukan di Laboratorium Terpadu Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hassanudin. Spektrum yang diperoleh digunakan untuk mengetahui gugus fungsi pada senyawa dari hasil isolasi kulit buah manggis.

c. Spektrometer ¹H-NMR

Isolat G₈M₆L₇ yang telah murni sebanyak 6 mg dilakukan analisis menggunakan ¹H-NMR dengan pelarut kloroform deuterasi (CDCl₃) yang dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam (KOB) Departemen Kimia Institut Teknologi Bandung. Spektrum yang diperoleh digunakan untuk mengetahui jumlah proton pada senyawa dari hasil isolasi kulit buah manggis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Partisi

Kulit buah manggis yang sudah kering dipotong dan dihaluskan untuk memperbesar luas permukaan dan membantu proses pemecahan membran sel sehingga proses ekstraksi berjalan maksimal. Ekstraksi kulit buah manggis menggunakan metode maserasi dimana perendaman sampel dilakukan pada

suhu kamar dalam keadaan tertutup menggunakan pelarut organik. Serbuk kulit buah manggis sebanyak 2,5 kg diekstraksi menggunakan pelarut metanol sebanyak 9 L. Proses maserasi terjadi peristiwa difusi, dimana pelarut metanol dapat masuk ke dalam membran sel tumbuhan dan dapat memecahkan dinding sel, kemudian membawa komponen yang terdapat didalam membran sel tumbuhan untuk berdifusi dari sel ke dalam pelarut. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam agar senyawa metabolit sekunder pada kulit buah manggis dapat terekstrak secara maksimal.

Hasil maserasi disaring sehingga didapatkan filtrat berwarna merah tua, dan residu. Hasil maserasi diuapkan menggunakan *rotatory evaporator* pada suhu 40°C sehingga menghasilkan ekstrak kering metanol sebanyak 138,87 g dengan rendemen 5,43 %.

Ekstrak metanol difraksinasi menggunakan metode partisi. Metode ini dilakukan pemisahan campuran senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran menggunakan prinsip *like dissolves like* dimana senyawa yang memiliki sifat polar akan terlarut dalam pelarut polar dan pelarut yang memiliki sifat nonpolar akan terlarut dalam pelarut nonpolar. Partisi dilakukan dengan kepolaran bertingkat dimana dimulai dari pelarut nonpolar, semi polar hingga polar.

Ekstrak kental metanol dipartisi dengan cara ditambahkan dengan *n*-heksana. Partisi menggunakan *n*-heksana bertujuan untuk memisahkan komponen senyawa nonpolar pada ekstrak metanol. Hasil partisi *n*-heksana membentuk larutan dan endapan yang kemudian disaring dan menghasilkan filtrat dan residu. Hasil filtrat merupakan fraksi *n*-heksana dan residu merupakan fraksi sisa metanol. Perlakuan diulang sampai larutan pudar, yang mengindikasikan bahwa tidak ada lagi zat terlarut yang terkandung dalam *n*-heksana. Hasil residu selanjutnya dicampurkan kembali menggunakan diklorometana (DCM). Lakukan langkah yang sama menggunakan etil asetat dan metanol. Adapun hasil setiap fraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil rendemen setiap fraksi

Fraksi	Massa (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksana	2,8513	4,93%
DCM	37,1600	64,19%
Etil asetat	11,5432	19,94%
Metanol	6,3348	10,94%

Uji Fitokimia

Tabel 2 Hasil uji fitokimia setiap fraksi

Fraksi	Uji Alkaloid	Uji Steroid	Uji Terpenoid	Uji Flavonoid	Uji Fenolik
<i>n</i> -heksana	+	+	-	-	-
DCM	+	-	-	++	++
Etil asetat	+	-	-	++	++
Metanol	+	-	-	+	+

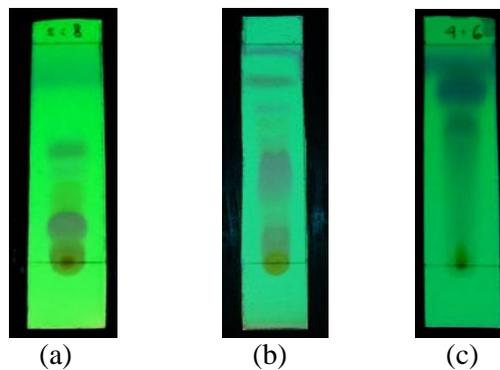
Keterangan : (-) tidak teridentifikasi
(+) teridentifikasi

(++) teridentifikasi banyak

Pemisahan dan Pemurnian

Hasil fraksi DCM selanjutnya dilakukan pemisahan dengan menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV). Fraksi DCM dilakukan orientasi terlebih dahulu menggunakan metode KLT dengan beberapa

variasi perbandingan eluen. Tujuan perbandingan eluen untuk menentukan eluen yang digunakan pada saat elusi KCV. Hasil orientasi KLT fraksi DCM dapat dilihat pada Gambar 1.



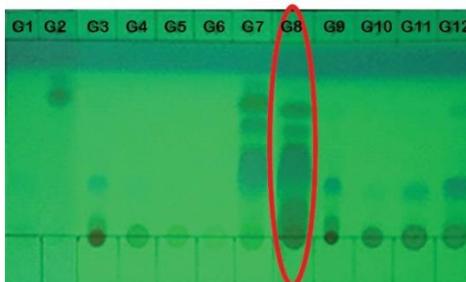
Gambar 1. KLT fraksi DCM eluen *n*-heksana:etil asetat (a) 8:2 (b) 6:4 (c) 4:6

Berdasarkan Gambar 1, hasil kromatogram menunjukkan banyaknya senyawa yang terdapat pada fraksi DCM, sehingga diperlukan kombinasi pelarut dengan peningkatan kepolaran secara bergradien untuk mendapatkan hasil pemisahan yang sesuai dengan tingkat kepolaran dari senyawa. Fraksi DCM sebanyak 36 g dimana dilakukan 2 kali tahapan KCV. Fraksi DCM diimpregnasi menggunakan silika gel 60-70 mesh dengan perbandingan 1:1 untuk menghomogenkan sampel. Fraksi DCM yang sudah diimpregnasi

kemudian dimasukkan ke dalam kolom yang sudah berisi fase diam. Fase gerak yang digunakan berupa eluen kombinasi *n*-heksana : etil asetat (8:2, 6:4, 4:6, dan 2:8), etil asetat : metanol (1:1), dan metanol 100%. Elusi diawali dengan eluen *n*-heksana : etil asetat (8:2) dengan tujuan untuk memisahkan senyawa nonpolar yang terdapat pada fraksi DCM. Hasil total fraksi pemisahan ditampung sebanyak 100 mL ke dalam botol vial sehingga diperoleh fraksi sebanyak 24 fraksi.

Hasil fraksi KCV kemudian dilakukan KLT menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (6:4). Data KLT dapat digunakan sebagai acuan untuk menggabungkan fraksi yang memiliki pola noda dan *R_f* yang relatif sama. Fraksi yang memiliki pola noda dan *R_f* yang relatif sama dapat dikatakan merupakan

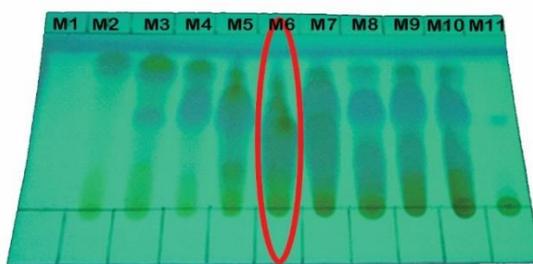
senyawa yang memiliki karakteristik yang relatif sama. Hasil gabungan dari 24 fraksi diperoleh 12 fraksi gabungan yaitu G₁-G₁₂.



Gambar 2. KLT hasil fraksi gabungan KCV fraksi DCM UV 254 nm

Hasil KLT gabungan pada Gambar 2 menunjukkan bahwa fraksi G₈ memiliki senyawa yang kompleks sebanyak 18,4801 g sehingga dilakukannya pemisahan kembali menggunakan KCV. Fraksi G₈ sebanyak 18,4801 g diimpregnasi menggunakan silika gel 60-70 mesh dengan perbandingan 1:1 untuk menghomogenkan sampel. Fraksi G₈ yang sudah diimpregnasi kemudian dimasukkan ke dalam kolom yang sudah berisi fase diam. Fase gerak yang digunakan berupa eluen kombinasi *n*-heksana 100%, *n*-heksana:etil asetat (9:1, 8:2, 6:4, 4:6, dan 2:8), etil asetat:metanol (1:1), dan metanol 100%. Elusi diawali dengan eluen *n*-heksana 100% dengan tujuan untuk memisahkan senyawa nonpolar yang terdapat pada fraksi G₈. Hasil total fraksi pemisahan ditampung sebanyak 100 mL kedalam botol vial sehingga diperoleh fraksi sebanyak 40 fraksi.

Hasil fraksi KCV kemudian dilakukan KLT dengan eluen perbandingan *n*-heksana:etil asetat (6:4) untuk menggabungkan fraksi yang memiliki pola noda dan *R_f* yang relatif sama. Fraksi dengan pola noda dan *R_f* yang relatif sama dapat dikatakan memiliki senyawa dengan karakteristik yang relatif sama. Hasil gabungan dari 40 fraksi diperoleh 15 fraksi gabungan yaitu G₈M₁- G₈M₁₁.



Gambar 3. KLT hasil fraksi gabungan KCV fraksi G₈ UV 254 nm

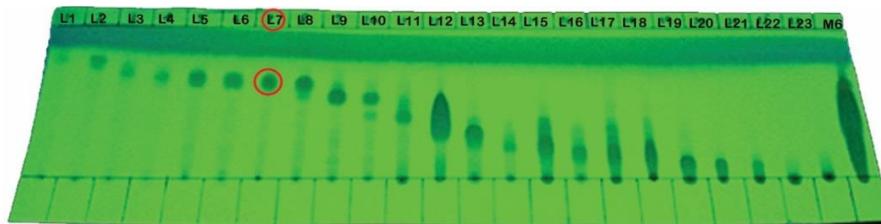


Gambar 4. KLT hasil fraksi gabungan KCV fraksi G₈ serum sulfat

Hasil fraksi G_8M_6 sebelumnya dilakukan orientasi menggunakan metode KLT terlebih dahulu untuk menentukan eluen awal pada KKF. Hasil orientasi menggunakan metode KLT dipilih eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1) yang digunakan sebagai eluen awal karena pola noda sudah terpisah walaupun jarak antar noda rapat, sehingga dibutuhkan elusi secara bergradien agar memisahkan senyawa satu dengan lainnya.

Fraksi G_8M_6 yang sudah diimpregnasi kemudian dimasukkan ke dalam kolom yang sudah berisi bubuk silika gel. Fase gerak yang digunakan berupa eluen kombinasi *n*-heksana : etil asetat dengan perbandingan 9:1, 8:2, 7:3,

6:4, 1:1, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, dan metanol 100%. Elusi diawali dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1) dengan tujuan untuk memisahkan senyawa nonpolar yang terdapat pada fraksi G_8M_6 . Hasil total fraksi pemisahan ditampung sebanyak 5 mL kedalam botol vial sehingga diperoleh fraksi sebanyak 525 vial. Hasil fraksi KKF diidentifikasi menggunakan metode KLT dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (4:6) untuk menggabungkan fraksi yang memiliki pola noda dan *R_f* yang relatif sama. Fraksi gabungan yang diperoleh sebanyak 23 fraksi ($G_8M_6L_1$ - $G_8M_6L_{23}$) dari 525 vial yang ditampung.

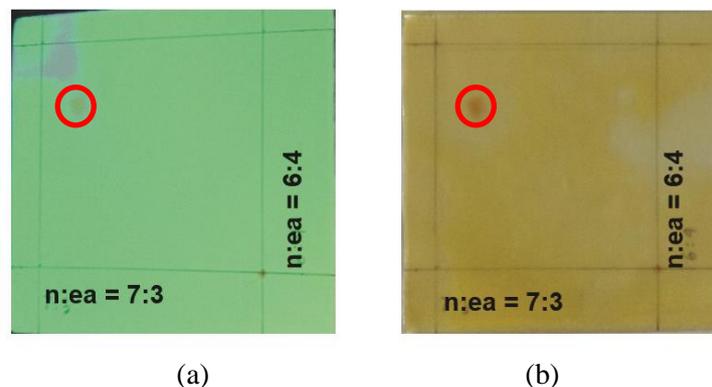


Gambar 5. KLT fraksi gabungan KKF *n*-heksana : etil asetat (4:6) UV 254 nm

Hasil KLT pada setiap fraksi menunjukkan hasil pola noda yang cukup sederhana. Isolat $G_8M_6L_7$ menunjukkan spot noda tunggal yang berarti isolat cukup murni sehingga tidak diperlukan pemurnian lebih lanjut. Hasil reagen sempnot serum sulfat pada isolat $G_8M_6L_7$ menunjukkan bahwa spot noda kuning merupakan golongan senyawa santonsesuai dengan penelitian Lukis dan Ersan (2011) dan memiliki massa yang relatif banyak sehingga dipilih untuk analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis,

spektrofotometer FT-IR dan spektrometer 1H -NMR.

Uji kemurnian isolat $G_8M_6L_7$ dilakukan dengan menggunakan metode KLT dua dimensi yang bertujuan untuk mengetahui kemurnian dari isolat yang dihasilkan dari proses isolasi. Eluen perbandingan yang digunakan pada KLT dua dimensi adalah *n*-heksana : etil asetat (7:3), yang kemudian dilanjutkan dengan eluen perbandingan *n*-heksana : etil asetat (6:4). Hasil KLT dua dimensi isolat $G_8M_6L_7$ dapat dilihat pada Gambar 6.



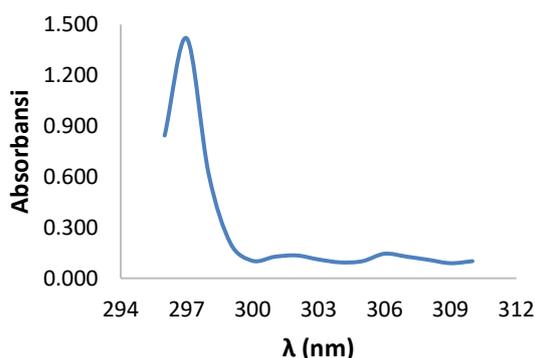
Gambar 6. Kromatogram KLT dua dimensi terhadap isolat $G_8M_6L_7$
Keterangan : (a) UV 254 nm (b) Serum sulfat

Hasil KLT dua dimensi pada Gambar 6 menunjukkan terdapatnya spot noda relatif tunggal pada plat KLT, sehingga dapat disimpulkan senyawa pada isolat $G_8M_6L_7$ relatif murni. Massa yang didapatkan pada isolat $G_8M_6L_7$ adalah 27,6 mg. Hasil KLT dua dimensi pada Gambar 6(b) menunjukkan bahwa isolat positif mengandung senyawa santon dikarenakan setelah disemprot dengan reagen serium sulfat spot noda berwarna kuning. Warna noda pada hasil uji KLT apabila disemprot dengan reagen serium sulfat berwarna kuning mengindikasikan adanya senyawa santon (Lukis dan Ersan, 2011).

Karakterisasi Isolat $G_8M_6L_7$

Analisis Spektrum UV-Vis

Isolat $G_8M_6L_7$ yang telah murni dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Analisis UV-Vis menggunakan panjang gelombang 200-400 nm.

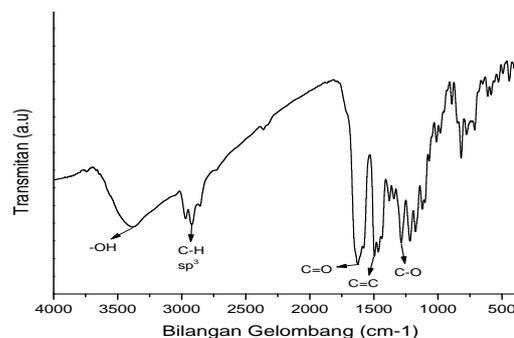


Gambar 7. Spektrum UV dari $G_8M_6L_7$

Berdasarkan Gambar 7, terdapat puncak pada λ 297 nm. Puncak pada λ 297 nm menandakan adanya kromofor yang berkonjugasi untuk sistem ikatan rangkap terkonjugasi (-C=C-C=C-) pada senyawa aromatik yang menunjukkan adanya eksitasi elektron dari $\pi \rightarrow \pi^*$. Puncak pada λ 306 nm menandakan adanya sistem terkonjugasi (-C=C-C=O) dari heteroatom dengan ikatan rangkap terkonjugasi yang menunjukkan adanya eksitasi elektron dari $n \rightarrow \pi^*$. Senyawa santon memiliki gugus aromatik dengan ikatan rangkap terkonjugasi pada panjang gelombang 200-400 nm, sehingga diduga isolat $G_8M_6L_7$ yang dihasilkan merupakan senyawa santon.

Analisis Spektrum FT-IR

Isolat $G_8M_6L_7$ yang telah murni dianalisis menggunakan spektrofotometer FT-IR pada bilangan gelombang 500-4000 cm^{-1} . Hasil analisis FT-IR dapat dilihat pada Gambar 8.



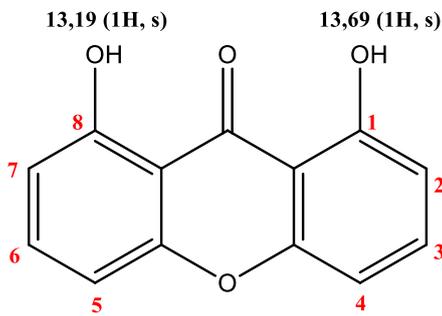
Gambar 8. Spektrum FT-IR dari $G_8M_6L_7$

Spektrum FT-IR pada Gambar 8 menunjukkan beberapa bilangan gelombang atau pita serapan yang khas pada gugus fungsi senyawa santon. Pita serapan pada bilangan gelombang 1624,06 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karbonil terkkelat dengan didukung adanya bilangan gelombang 3383,14 cm^{-1} yang menandakan gugus hidroksi (-OH). Pita serapan pada bilangan gelombang 1463,97 cm^{-1} menandakan ciri khas dari (-C=C-) allil sp^2 dan pada bilangan gelombang 1284,59 cm^{-1} menunjukkan gugus C-O pada eter ataupun hidroksi. Pita serapan pada bilangan gelombang 2968,45 cm^{-1} , 2922,16 cm^{-1} dan 2856,58 cm^{-1} menandakan adanya gugus C-H alifatik sp^3 . Interpretasi FT-IR memperkuat dugaan bahwa isolat $G_8M_6L_7$ memiliki kerangka dasar santon.

c. Analisis Spektrum 1H -NMR

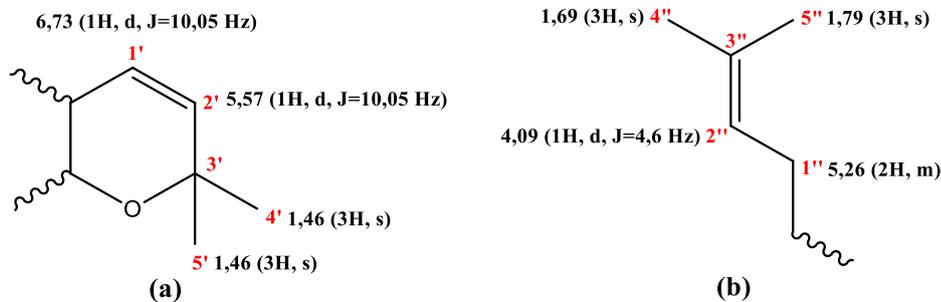
Isolat $G_8M_6L_7$ dilarutkan dalam pelarut kloroform deuterasi ($CDCl_3$) kemudian dilakukan analisis menggunakan 1H -NMR pada frekuensi 500 MHz untuk mengetahui jumlah proton pada senyawa hasil isolasi. Spektrum 1H -NMR menunjukkan bahwa senyawa pada isolat $G_8M_6L_7$ mengandung 20 geseran kimia. Dua proton pada geseran 13,69 (1H, s) dan 13,19 (1H, s) diduga menunjukkan adanya 2 hidroksi terkkelat yang dapat dilihat pada Gambar 9. Data spektrum ini dibandingkan dengan penelitian Mutiah (2017)

dimana pada geseran 13,53 (1H,s) menandakan adanya hidroksi khelat.



Gambar 9. Struktur senyawa santon

Tiga proton pada geseran 6,73 (1H, d, $J=10,05$ Hz), 5,57 (1H, d, $J=10,05$ Hz), dan 1,46 (3H, s) menandakan adanya sinyal pada gugus prenil tersiklisasi. Beberapa proton pada geseran 5,26 (2H, m), 4,09 (1H, d, $J=6,4$ Hz), 1,79 (3H, s), dan 1,69 (3H, s) menandakan adanya sinyal pada gugus prenil. Data spektrum ini dibandingkan dengan penelitian Yang *et al.* (2017), dimana pada geseran 6,61 (1H, d, $J=9,9$ Hz), 5,73 (1H, d, $J=9,9$ Hz), 1,43 (3H, s) menunjukkan adanya gugus prenil tersiklisasi, sedangkan pada geseran 5,18 (1H, t, $J=6,8$ Hz), 4,02 (2H, d, $J=6,8$ Hz), 1,78 (3H, s), dan 1,61 (3H, s) menunjukkan adanya gugus prenil.



Gambar 10. Gugus (a) prenil tersiklisasi (b) prenil

Tabel 3. Data perbandingan spektrum $^1\text{H-NMR}$ isolat $\text{G}_8\text{M}_6\text{L}_7$ dengan mangostanin (santon terprenilasi) menggunakan pelarut DMSO-d_6 MHz penelitian Yang *et al.* (2017)

Proton	Isolat $\text{G}_8\text{M}_6\text{L}_7$	Mangostanin (santon terprenilasi)*
$\text{H}_{1'}$	6,73 (1H, d, $J=10,05$ Hz)	6,77 (1H, d, $J=10$ Hz)
$\text{H}_{2'}$	5,57 (1H, d, $J=10,05$ Hz)	5,62 (1H, d, $J=10$ Hz)
$\text{H}_{4'}$	1,46 (3H, s)	1,43 (3H, s)
$\text{H}_{5'}$	1,46 (3H, s)	1,43 (3H, s)
$\text{H}_{1''}$	4,09 (1H, d, $J=4,6$ Hz)	5,18 (1H, t, $J=6,8$ Hz)
$\text{H}_{2''}$	5,26 (2H, m)	4,02 (2H, d, $J=6,8$ Hz)
$\text{H}_{4''}$	1,69 (3H, s)	1,69 (3H, s)
$\text{H}_{5''}$	1,79 (3H, s)	1,78 (3H, s)

Keterangan : (*) penelitian Yang *et al.* (2017)

Adanya beberapa proton pada geseran 7,76 (1H, d), 7,31 (1H, d, $J=7,75$ Hz), 7,24 (1H, d), 6,83 (1H, s), 6,68 (1H, d, $J=8,8$ Hz), 6,61 (1H, s), 6,54 (1H, s), 6,32 (1H, s) dan 6,24 (1H, s) diduga menunjukkan adanya proton pada gugus aromatik. Dua proton pada 12,36 (1H, s) dan 11,27 (1H, s) diduga menunjukkan adanya gugus hidroksi. Beberapa proton pada geseran 5,08 (1H, s), 3,80 (1H, s)

dan 3,52 (6H, s) menunjukkan adanya menunjukkan proton teroksidasi atau proton yang terikat dengan karbon teroksidasi. Beberapa proton pada geseran 1,87 (7H, ss), 1,83 (1H, s), 1,75 (3H, s) 1,59 (8H, s), 1,49 (1H, s) dan 1,25 (4H, s) menunjukkan adanya proton yang tidak memiliki elektronegatifitas.

Hasil dugaan proton pada setiap pergeseran merujuk pada hasil penelitian penelitian Mutiah (2017) dan Yang *et al.*

(2017)dimana adanya proton pada gugus aromatik, hidroksi khelat, dan gugus hidroksi yang merupakan ciri khas dari senyawa santon. Adanya 4 metil pada gugus prenil menunjukkan bahwa senyawa santon memiliki 2 gugus prenil yaitu gugus prenil dan prenil tersiklisasi. Interpretasi ¹H-NMR menunjukkan bahwa senyawa pada isolat G₈M₆L₇ diduga merupakan senyawa santon terprenilasi.

SIMPULAN

Hasil dari penelitian dapat disimpulkan bahwa isolat G₈M₆L₇ berbentuk kristal berwarna kuning sebanyak 27,6 mg ditunjukkan dengan adanya spot noda berwarna kuning pada reagen semprot serum sulfat pada plat KLT. Interpretasi UV-Vis menunjukkan adanya kromofor yang berkonjugasi pada puncak 297 nm. Interpretasi FT-IR menandakan pita yang khas pada senyawa santon, pada 1624,06 cm⁻¹ menunjukkan gugus karbonil terkhelat yang didukung bilangan gelombang 3383,14 cm⁻¹ menandakan gugus hidroksi (-OH), 1463,97 cm⁻¹ menandakan ciri khas dari (-C=C-) allil sp², 1284,59 cm⁻¹ menunjukkan gugus C-O pada eter ataupun hidroksi serta pada 2968,45 cm⁻¹, 2922,16 cm⁻¹ dan 2856,58 cm⁻¹ menandakan gugus C-H alifatik sp³. Interpretasi ¹H-NMR menunjukkan karakteristik dari senyawa santon terprenilasi pada geseran kimia rentang 6-8 ppm menunjukkan adanya gugus aromatik, 13,69 (1H, s) dan 13,19 (1H, s) menunjukkan adanya 2 hidroksi terkhelat, 6,73 (1H, d, *J*=10,05 Hz), 5,57 (1H, d, *J*=10,05 Hz) dan 1,46 (3H, s) menunjukkan adanya gugus prenil tersiklisasi, serta 5,26 (2H, m), 4,09 (1H, d, *J*=6,4 Hz), 1,79 (3H, s) dan 1,69 (3H, s) menunjukkan adanya gugus prenil. Berdasarkan data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa isolat G₈M₆L₇ dari fraksi DCM kulit buah manggis merupakan golongan senyawa santon.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Massarani, S. M., Gamal, A. A. E., Al-Musayeib, N. M., Mothana, R. A., Basudan, O. A., Al-Rehaily, A. J., Farag, M., Assaf, M. H., Tahir, K. H. E., and Maes, L. 2013. Phytochemical Antimicrobial and Antiprotozoal Evaluation of *Garcinia mangostana* Pericarp and α -Mangostin Its Major

Xanthone Derivative. *Molecules*. 18: 10599-10608.

- Astutiningsih, C., Frida, N., dan Agus, S. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) Secara Spektrofotometri UV-Vis dan IR serta Uji Toksisitas Akut Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach. *J. Farmasi Sains dan Komunitas*. 9(2): 66-70.
- Chin, Y. W., Jung, H. A., Chai, H., Keller, W. J., and Kinghorn, A. D. 2008. Xanthoness With Quinone Reductase-Inducing Activity From The Fruits Of *Garcinia Mangostana* (Mangosteen). *Phytochemistry*. 69: 754-758.
- Dungir, S. G., Katja, D. G., dan Kamu, V. S. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal MIPA Unsrat Online*, 1(1): 11-15.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia III, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan*. Jakarta: Yayasan Sarana Wahajaya.
- Inas, O. K., Abdel, K. M., and Cheng, L. G. E. 2014. Isolation Characterization and some Biological Activities of a Xanthone from *Garcinia Mangostana*. *Journal of Forest Products & Industries*, 3(5): 216-220.
- Larson, R. T., Lorch, J. M., Pridgeon, J. W., Becnel, J. J., Clark, G. G., and Lan, Q. 2010. The Biological Activity of α -Mangostin, a Larvicidal Botanic Mosquito Sterol Carrier Protein-2 Inhibitor. *J Med Entomol*, 47(2): 249-257.
- Lukis, P. A., dan Ersam, T. 2011. Dua Senyawa Mangostin dari Ekstrak *n*-Heksana pada Kayu Akar Manggis (*Garcinia mangostana*, Linn.) Asal Kab.Nganjuk, Jawa Timur. *Prosiding Kimia FMIPA ITS*:1-10.
- Moongkarndi, P., Jaisupa, N., Kosem, N., Konlata, J., Samer, J., Pattanapanyasat, K., and Rodpai, E. 2015. Effect of Purified α -mangostin from Mangosteen Pericarp on Cytotoxicity, Cell Cycle Arrest and Apoptotic Gene Expression in Human Cancer Cells. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. 3(8): 1473-1484.
- Muthiah, F. 2017. Tiga Santon Terprenilasi dari Akar *Garcinia tetrandra*

Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Santon pada Fraksi Diklorometana Kulit Buah Manggis
(*Garcinia mangostana* L.) Asal Kalimantan Barat
(I. Permatasari, M. A. Wibowo, Rudiyanasyah dan A. H. Alimuddin)

- Pierre. *Skripsi*. Departemen Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., dan Pramono, S. 2016. Ekstrak Etanol, Ekstrak Etil Asetat, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi n-heksan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Sumber Zat Bioaktif Penangkal Radikal Bebas. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 01: 71-82.
- Putra, S. R. 2011. *Manggis Pembasmi Kanker*. Yogyakarta: DIVA Press.
- Ragasa, C. Y., Tabin, T. J., Reyes, J. M. A., Tan, M. C. S., and Shen, C. C. 2016. Xanthones from *Garcinia mangostana* Linn. Pulp. *Der Pharmacia Lettre*, 8(20): 188-190.
- Ramesh, S. K., Priya, M., and Prabhu, S. 2017. Isolation of Garcinone E from *Garcinia mangostana* Linn and Its Cytotoxic Effect on sp2/0 cell lines. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6(5): 67-76.
- Riscoe, M., Kelly, J. X., and Winter, R. 2005. Xanthones as Antimalarial Agents Discovery Mode of Action and Optimization. *Curr. Med. Chem.* 12(1): 2539-2549.
- Ryu, H. W., Cho, J. K., Long, M. J. C., Yuk, H. J., Kim, Y. S., Jung, S., Kim, Y. S., Lee, B. W., and Park, K. H. 2011. α -Glucosidase Inhibition and Antihyperglycemic Activity of Prenylated Xanthones from *Garcinia mangostana*. *Phytochemistry*. 72: 2148-2154.
- Shabella, R. 2011. *Terapi Kulit Manggis*. Klaten: Galmas Publishers.
- Suksamrarn, S., Komutiban, O., Ratananukul, P., Chimnoi, N., Lartpornmatulee, N., and Suksamrarn, A. 2006. Cytotoxic Prenylated Xanthones from the Young Fruit of *Garcinia mangostana*. *Chem. Pharm. Bull.* 54(3): 301-305.
- Suzy, S. A., Mieke, H., Warta, D., and Unang, S. 2018. Antibacterial Activity of Prenylated Xanthones from Pericarp of *Garcinia mangostana* against Persistent Dental Infection Microorganism *Enterococcus faecalis*. *Research Journal of Chemistry and Environment*. 22(2): 184-188.
- Yu, L., Zhao, M., Yang, B., Zhao, Q., and Jiang, Y. (2007). Phenolics from Hull of *Garcinia mangostana* Fruit and Their Antioxidant Activities. *Food Chemistry*. 104: 176-181.
- Yang, R., Li, P., Li, N., Zhang, Q., Bai, X., Wang, L., Xiao, Y., Yang, Q., and Yan, J. 2017. Xanthones from the Pericarp of *Garcinia mangostana*. *Molecules*. 22(683): 1-10.